

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СПОРОЗОИТАМИ *EIMERIA TENELLA*  
(SPOROZOA, COCCIDIIDA)  
ЭКЗОГЕННОГО  $^{14}\text{C}$ -ГЛИЦИНА ДЛЯ СИНТЕЗА БЕЛКОВ

Ю. М. Крылов, Е. С. Сванбаев

Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт  
птицеводства МСХ СССР, Ленинград

Установлено, что спорозоиты кокцидий *Eimeria tenella* ассимилируют  $^{14}\text{C}$ -глицин из внеклеточной среды.

Спорозоиты кокцидий представляют собой стадию, заражающую хозяина. При этом принимается, что энергетическое обеспечение процессов эксцистирования, миграции в просвет кишечника и проникновение в клетку хозяина осуществляется у спорозоитов только за счет питательных веществ, накопленных в макрогамете (Хейсин, 1967; Hammond, 1973; Wang, 1978; Бейер и др., 1978). Однако эта общепризнанная точка зрения, по-видимому, не совсем верна. Так, Райли (Rayly, 1973) показал, что спорозоиты активно потребляют глюкозу и фруктозу из окружающей среды и этот процесс сопряжен с транспортом электронов по дыхательной цепи, а Софилд и Строут (Sofield, Strout, 1974), изучая процесс проникновения спорозоитов в культуру клеток, показали существование зависимости этого процесса от содержания некоторых аминокислот в культуральной среде. Естественно было сделать предположение о способности спорозоитов ассимилировать аминокислоты из внешней среды. Для проверки гипотезы мы поставили ряд экспериментов.

**М а т е р и а л и м е т о д ы.** В опытах использованы спорозоиты *Eimeria tenella* штамм Л-1-23. Спорозоитов получали в условиях, исключающих присутствие сопутствующей микрофлоры, модифицированным методом Райли и Доран (Rayly, 1973; Doran, 1973). Для выяснения способности спорозоитов инкорпорировать аминокислоты инкубацию спорозоитов проводили с 10, 20 и 30 мкКи  $^{14}\text{C}$ -глицина, удельная активность 52.5 мКи/мМ, в растворе Хенкса в течение 60 мин при 41°. После

инкубации спорозоитов отмывали от метки и определяли радиоактивность инкорпорированной аминокислоты. При выяснении способности спорозоитов синтезировать белки, используя аминокислоты из внешней среды, применялась среда 199, в которой спорозоитов инкубировали в течение 60, 120 и 180 мин с 20 мкКи  $^{14}\text{C}$ -глицина при  $41^\circ\text{C}$ , после чего тщательно отмывали от метки и выделяли тотальные белки (ТХУ нерастворимые белки) с применением 10%-ной трихлоруксусной кислоты и последующей отмывкой насыщенным спиртовым раствором ацетата натрия. Радиоактивность проб и отмывок определяли в сцинтиллаторе Брея на сцинтилляционном счетчике «Марк-3» (США), рассчитывали количество мкМ глицина/ $10^5$  спорозоитов в случае изучения инкорпорирования и мкМ глицина/белок  $10^5$  спорозоитов при исследовании способности синтезировать белки, используя экзогенные аминокислоты.

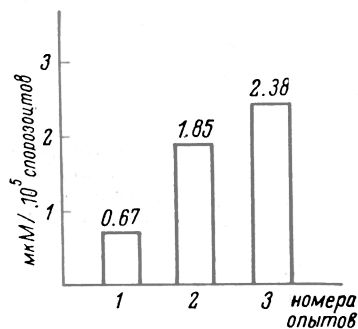


Рис. 1. Инкорпорирование  $^{14}\text{C}$ -глицина спорозоитами *E. tenella* в зависимости от концентрации во внешней среде.

1 — 10 мкКи  $^{14}\text{C}$ -глицина, 2 — 20 мкКи  $^{14}\text{C}$ -глицина, 3 — 30 мкКи  $^{14}\text{C}$ -глицина.

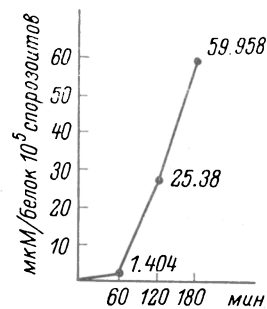


Рис. 2. Включение  $^{14}\text{C}$ -глицина в ТХУ нерастворимую фракцию белков спорозоитов *E. tenella* в течение 180 мин.

В экспериментах использованы стерильные растворы; эффективность счета проб 92—93%; отмывки проводили до величины фона сцинтиллятора. Жизнеспособность спорозоитов контролировали микроскопически на протяжении всего времени инкубации. В работе приведены средние величины 3 параллельных опытов.

**Результаты исследований.** При исследовании способности спорозоитов *E. tenella* инкорпорировать аминокислоты из внешней внеклеточной среды (рис. 1) нами были получены следующие данные: в пробах с 10, 20 и 30 мкКи/2.5 мл в  $10^5$  спорозоитов включалось соответственно 0.67, 1.85 и 2.38 мкМ  $^{14}\text{C}$ -глицина.

При исследовании способности спорозоитов синтезировать белки, используя экзогенные аминокислоты (рис. 2), были получены следующие результаты: через 60 мин в тотальные белки  $10^5$  спорозоитов включалось 1.404 мкМ  $^{14}\text{C}$ -глицина, через 120 мин — 25.38 мкМ, а через 180 мин — 59.958 мкМ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что спорозоиты кокцидий на стадии внеклеточного существования инкорпорировывают  $^{14}\text{C}$ -глицин и включают его в свои белки. Интенсивность этого процесса зависит от концентрации глицина во внешней среде. С увеличением концентрации  $^{14}\text{C}$ -глицина во внешней среде от 10 до 30 мкКи/2.5 мл среды инкорпорирующая способность возрастает.

Увеличение метки в тотальном белке при различных сроках инкубации показывает, что спорозоиты кокцидий синтезируют белки до проникновения в клетку хозяина.

Таким образом, существующая точка зрения о том, что питание у кокцидий начинается только на стадии трофозойта, должна быть отвергнута. Полученные данные показывают, что ассимиляция питатель-

ных веществ осуществляется кокцидиями уже на стадии спорозоитов в период их существования в просвете пищеварительного тракта, в среде, богатой различными питательными веществами.<sup>1</sup>

#### Л и т е р а т у р а

- Бейер Т. В., Шибалова Т. А., Костенко Л. А. 1978. Цитология кокцидий. Л.: 1—185.
- Хейсин Е. М. 1967. Жизненные циклы кокцидий домашних животных. Л.: 1—194.
- Doran D. J. 1973. Excisting sporozoites. — In: The Coccidia. Edit. by Hammond D. A. and Long P. L. University Park Press. Baltimore Butterworths. London: 432—434.
- Hammond D. M. 1973. Life cycles and development of coccidia. — In: The Coccidia. Edit. by Hammond D. A. and Long P. L. University Park Press. Baltimore Butterworths. London: 45—80.
- Rauly J. F. 1973. Cytochemistry, Physiology, and Biochemistry. — Там же: 145—182.
- Rauly J. F. 1973. Oocyst isolation techniques. — Там же: 432—434.
- Sofield W. L., Stout R. G. 1974. Amino acids essential for in vitro cultivation of *Eimeria tenella*. — J. Protozool. 21, (3). Suppl.: 434.
- Wang C. C. 1978. Biochemical and nutritional aspects of coccidia. — In: Avian Coccidiosis. Edit. by Long P. L., Borman K. N. and Freeman B. M. British Poultry Science Ltd. Edinburgh: 135—184.

---

#### THE USE OF EXOGENOUS <sup>14</sup>C-GLYCINE BY SPOROZOITES OF EIMERIA TENELLA (SPOROZOA, COCCIDIIDA) FOR SYNTHESIS OF PROTEINS

Yu. M. Krylov, E. S. Svanbaev

#### S U M M A R Y

By means of <sup>14</sup>C-glycine the ability of sporozoites of *Eimeria tenella* to synthesize proteins using amino acids from external extracellular medium was shown.

---